Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Online ISSN: 2345-427X
Print ISSN: 2345-4288

Evaluation of chronic and acute hypoxia stress on the immune and antioxidant system of Common carp in biofloc system

Masoud Saberi[1], Hossien Adineh[*2], Mohammad Harsij[3], Hojatallah Jafaryan[4], Rahman Patimar[5]

1. Dept. of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. E-mail: saman51z@yahoo.com
2. Corresponding Author, Dept. of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. E-mail: adineh.h@gmail.com
3. Dept. of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. E-mail: m_harsij80@yahoo.com
4. Dept. of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. E-mail: hojat.jafaryan@gmail.com
5. Dept. of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. E-mail: rpatimar@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 03.17.2022
Revised: 04.14.2022
Accepted: 04.19.2022

Keywords:
Biofloc technology,
Cyprinus carpio,
Hypoxia stress,
Immune-antioxidant reaction

ABSTRACT

Hypoxia stress is an unfavorable environmental condition for fish that can have several effects on immunity and antioxidant. The aim of the present study investigated the impact of hypoxia stress (Chronic; 2 to 2.5 mg/L for 36 hours) and (acute; 0.013 and 0.017 mg/L for 1.5 hours) compared to control (6 to 7 mg/L) on survival, immune and oxidative status Common carp (*Cyprinus carpio*) in biofloc conditions. In the first stage, the fish (21.90 ± 0.75 g) were stored in 9 tanks (50 liters) in the biofloc system for 7 weeks. In the second stage, the fish were subjected to hypoxia stress (chronic and acute) and control (normoxia). After hypoxia stress, serum lysozyme, total immunoglobulin, and ACH50 activities were significantly lower, and red blood cells (RBC), hemoglobin, and hematocrit were higher in chronic and acute stress treatments. The activity of SOD, CAT, and GPX in the fish serum exposed to hypoxic stress was significantly reduced compared to the control. In general, the results show that both chronic and acute hypoxic stress weakened the blood parameters of common carp in the biofloc system.

Cite this article: Saberi, Masoud, Adineh, Hossien, Harsij, Mohammad, Jafaryan, Hojatallah, Patimar, Rahman. 2022. Evaluation of chronic and acute hypoxia stress on the immune and antioxidant system of Common carp in biofloc system. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 11 (2), 49-61.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2022.20047.1641
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

بررسی هیپوکسی حاد و مزمن بر سیستم ایمنی و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio*) در سیستم بیوفلاک

مسعود صابری[۱]، حسین آدینه*[۲]، محمد هرسیج[۳]، حجت ا... جعفریان[٤]، رحمان پاتیمار[٥]

۱. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. رایانامه: saman51z@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. رایانامه: adineh.h@gmail.com
۳. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. رایانامه: m_harsij80@yahoo.com
٤. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. رایانامه: hojat.jafaryan@gmail.com
٥. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. رایانامه: rpatimar@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۱۲/۲٦
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۱/۰۱/۲٥
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۰۱/۳۰

واژه‌های کلیدی:
استرس هیپوکسی،
بیوفلاک،
ماهی کپور،
واکنش ایمنی- آنتی‌اکسیدان

چکیده

استرس هیپوکسی یک شرایط محیطی نامطلوب برای ماهی است که می‌تواند اثرات متعددی بر ایمنی و آنتی‌اکسیدانی داشته باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر استرس هیپوکسی (مزمن؛ ۲ تا ۲/٥ میلی‌گرم در لیتر به‌مدت ۳٦ ساعت) و (حاد؛ ۰/۰۱۳ تا ۰/۰۱۷ میلی‌گرم در لیتر به‌مدت ۱/٥ ساعت) در مقایسه با شاهد (٦ تا ۷ میلی‌گرم در لیتر) بر بقا، ایمنی و وضعیت اکسیداتیو کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شرایط بیوفلوک بود. در مرحله اول، ماهی‌ها با میانگین وزن اولیه (۰/۷٥± ۲۱/۹۰ گرم) در ۹ تانک (٥۰ لیتری) به مدت ۷ هفته در سیستم بیوفلوک نگهداری شدند. در مرحله دوم، ماهی‌ها تحت استرس هیپوکسی (مزمن و حاد) و شاهد (نورموکسی) قرار گرفتند. پس از استرس هیپوکسی، فعالیت لیزوزیم سرم، ایمونوگلوبولین کل و ACH50 به‌طور معنی‌داری کمتر و گلبول‌های قرمز (RBC)، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمارهای استرس مزمن و حاد بالاتر بود (P<۰/۰٥). فعالیت SOD، CAT و GPX در سرم ماهیانی که در معرض استرس هیپوکسی قرار گرفتند به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت (P<۰/۰٥). به‌طورکلی نتایج نشان داد، استرس هیپوکسی مزمن و حاد باعث تضعیف پارامترهای خونی ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلوک می‌شود.

استناد: صابری، مسعود، آدینه، حسین، هرسیج، محمد، جعفریان، حجت ا...، پاتیمار، رحمان (۱۴۰۱). بررسی هیپوکسی حاد و مزمن بر سیستم ایمنی و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio*) در سیستم بیوفلاک. *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۱ (۲)، ٦۱-۴۹.
DOI: 10.22069/japu.2022.20047.1641

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

هر ساله به دلیل افزایش جمعیت و افزایش تقاضا برای منابع غذایی پروتئینی، تقاضا برای تولید جهانی غذا افزایش می‌یابد. این امر بر صید آبزیان فشار وارد می‌کند چراکه ماهی یک منبع پروتئین قابل دسترس در سراسر جهان است. با این حال، بهترین گزینه باقی‌مانده برای تولید ماهی برای تامین نیاز پروتئینی، تکیه بر آبزی‌پروری پیشرفته است (۱). ماهی کپور معمولی یکی از گونه‌های مهم در صنعت آبزی‌پروری ایران می‌باشد که به‌دلیل توانایی مقاومت در برابر تنش‌های زیست‌محیطی از جمله نوسانات دمایی، اکسیژن محلول، تراکم‌پذیری و رژیم غذایی همه‌چیزخواری کاندیدای مناسبی برای پرورش در تکنولوژی بیوفلاک است. پرورش این گونه به‌طور رایج در سیستم‌های نیمه متراکم و متراکم در استخرهای خاکی انجام می‌شود اما در سال‌های اخیر استفاده از سیستم بیوفلاک به‌منظور کاهش مصرف و بار آلودگی آب، کاهش هزینه غذا، بهبود ایمنی زیستی، افزایش توان فیزیولوژیکی ماهی در کشورهای پیشرفته نیز توسعه یافته است (۲).

تکنولوژی بیوفلاک یکی از سیستم‌های پرورشی با کمترین میزان استرس برای آبزیان از جمله ماهی کپور معمولی می‌باشد (۳)، اما توجه به فاکتورهایی هم‌چون میزان اکسیژن‌محلول، درجه حرارت آب، کنترل حجم فلاک، نور و دوره نوری، مقادیر ترکیبات نیتروژنی موجود در آب و غذا، تنظیم نسبت کربن به ازت و بررسی میکروارگانیسم‌های موجود در آن دارای اهمیت می‌باشد از این‌رو عدم کنترل این عوامل می‌تواند منجر به بروز استرس شود.

استرس‌ها را می‌توان به دو دسته استرس حاد و مزمن تقسیم‌بندی نمود که هر یک می‌تواند اثرات متفاوتی بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی و سلامت ماهی داشته باشند. هنگامی‌که اکسیژن‌محلول آب نزدیک به اشباع باشد، ماهی در موقعیت زیستی مناسبی قرار دارد درحالی‌که کاهش مقادیر اکسیژن محلول آب منجر به اثرات نامطلوب جدی بر سلامت ماهی شامل بی‌اشتهایی، استرس تنفسی، کمبود اکسیژن بافتی، بی‌قراری و در نهایت مرگ شود (٤).

مهم‌ترین شاخص کیفی آب که می‌تواند نقش به‌سزایی در افزایش تولید آبزیان داشته باشد تنظیم و کنترل اکسیژن محلول محیط پرورش می‌باشد (۵). کاهش اکسیژن محلول در یک سیستم آبی با غلظت ۱ الی ۳۰ درصد حالت اشباعی نیز هیپوکسی نامیده می‌شود که اکثر ماهیان نمی‌توانند در محیط با اکسیژن کم‌تر از ۳۰ درصد اشباع زندگی کنند (٦). یکی از عوامل محدودکننده توسعه سیستم بیوفلاک تامین و کنترل اکسیژن محلول محیط پرورش ماهی کپور معمولی است و بروز اختلال در سیستم اکسیژن‌رسانی منجر به رسوب فلاک در آبشش ماهی و در نتیجه ایجاد استرس تنفسی و آسیب به سیستم ایمنی و در نهایت مرگ می‌شود. وضعیت بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ماهیان پرورشی بخش مهمی از ارزیابی وضعیت سلامتی آن‌هاست که تغییرات آن‌ها می‌تواند شواهدی برای شرایط نامناسب محیطی یا وجود عوامل استرس‌زا باشد. با توجه به این‌که اغلب ماهیان در شرایط کارگاهی با استرس‌های متنوعی هم‌چون دستکاری، حمل و نقل، تراکم، کیفیت و کنترل تغییرات شیمیایی آب، بیماری، استفاده بی‌رویه از مواد ضدعفونی و داروها، کیفیت غذا و نحو غذادهی مواجه هستند، بررسی انواع مختلفی از استرس و اثرات آن‌ها بر فیزیولوژی ماهیان اهمیت خاصی دارد. مطالعاتی در خصوص پاسخ ایمنی و آنتی‌اکسیدانی آبزیان در برابر استرس در سیستم بیوفلاک منتشر شده است که می‌توان به پاسخ ایمنی و شاخص‌های استرسی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در برابر استرس حاد تراکم در سیستم بیوفلاک (۳)،

مقاومت ماهی روهو (*Labeo rohita*) در برابر استرس ناشی از بیماری آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) در سیستم بیوفلاک (۷)، بررسی استرس اکسیداتیو ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) تحت‌تأثیر پی‌اچ‌های مختلف در محیط بیوفلاک (۸)، ارزیابی وضعیت عملکردی و ایمنی گربه‌ماهی (*Ompok bimaculatus*) در برابر استرس حاد آمونیاک در سیستم بیوفلاک (۹)، پاسخ فیزیولوژیکی و ایمنی ماهی تیلاپیای نیل پرورش یافته در سیستم بیوفلاک در برابر ثرات استرس سرما (۱۰) و اثرات اندازه‌های مختلف بیوفلاک بر استرس کوتاه مدت ماهی سی‌باس ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) پرورش‌یافته در سیستم آبزی‌پروری بیوفلاک (۱۱) اشاره کرد. اگرچه مطالعات زیادی در خصوص به‌کارگیری روش‌های مختلف تکنولوژی بیوفلاک در صنعت آبزی‌پروری انجام شده است اما تاکنون اثرات فیزیولوژیکی کاهش اکسیژن (استرس هیپوکسی) بر ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک مورد تحقیق و پژوهش قرار نگرفته است بنابراین این مطالعه با هدف بررسی پاسخ ایمنی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور پرورش یافته در سیستم بیوفلاک در مواجهه با استرس مزمن و حاد هیپوکسی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش: تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی کپور معمولی در ۹ مخزن ۵۰ لیتری هر یک با ۲۰ قطعه ماهی با میانگین وزن ۰/۷۵± ۲۱/۹۰ گرم به‌مدت ٤۹ روز به‌میزان ۲/۵ درصد وزن بدن در سیستم بیوفلاک تغذیه شدند. برای تولید فلاک و فعال شدن میکروارگانیسم‌ها در محیط بیوفلاک در زمان شروع آزمایش، مخازن به‌میزان ۵۰ لیتر (٤۰ لیتر آب کلرزدایی شده + ۱۰ لیتر آب استخر پرورش ماهی) آبگیری شد. در طول دوره نگهداری ماهی، به مخازن پرورش ماهی در ۳ وعده غذای تجاری شرکت فرادانه با ۳۵ درصد پروتئین برای تامین ازت و یک ساعت بعد از غذادهی نیز ساکارز برای تامین کربن اضافه شد تا نسبت کربن به ازت در محدود ۱۵ حفظ شود.

پیش تست استرس هیپوکسی: بر اساس گزارش منتشر شده برای اعمال هیپوکسی حاد مدت زمان بین ۱ تا ۲ ساعت با مقادیر اکسیژن محلول نزدیک صفر و برای اعمال هیپوکسی مزمن مدت زمان ٤۸ ساعت با مقادیر اکسیژن بین ۲ تا ۳ گرم در لیتر در نظر گرفته شده است (۱۲). در این آزمایش برای مشخص میزان مقاومت ماهی کپور معمولی در برابر استرس هیپوکسی در سیستم بیوفلاک پیش تست انجام شد، بدین منظور در تست هیپوکسی حاد مخازن (۳ تکرار) با حجم فلاک حدود ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، تراکم ۱۵ گرم ماهی در لیتر و دمای ٢٤ درجه سانتی‌گراد آماده شد. زمان شروع تلفات ماهی کپور در سیستم بیوفلاک در حدود یک ساعت و نیم بعد از قطع هوادهی ثبت گردید. در شرایط قطع هوادهی مقدار اکیسژن محلول در محیط بیوفلاک از ٦ گرم در لیتر به ۰/۰۱۳ گرم در لیتر رسید. به‌منظور انجام پیش تست هیوکسی مزمن، ۳ مخزن با حجم فلاک حدود ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، تراکم ۱۵ گرم ماهی در لیتر و دمای ٢٤ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۲ تا ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر آماده شد. بعد از گذشت ۳٦ ساعت بر اثر کمبود اکسیژن رفتار ماهی‌ها تغییر یافته و برای جبران کمبود اکسژن کم کم به سطح آب آمدند. تیمار شاهد در سیستم بیوفلاک با غلظت اکسیژن بین ٦/۵ تا ۷ میلی‌گرم در لیتر توسط هوادهی حفظ شد.

استرس هیپوکسی (حاد و مزمن): پس از انجام پیش تست، برای اعمال استرس حاد هیپوکسی، ۳ مخزن ۲۵ لیتری هر یک دارای ۱۰ قطعه ماهی (با میانگین

وزن ۱/٤۳± ۳۷/۵۰ گرم) به‌مدت ۱ ساعت و سی دقیقه تحت استرس حاد کمبود اکسیژن در محدوده ۰/۰۱۷ تا ۰/۰۱۳ گرم در لیتر قرار داده شد. برای اعمال استرس مزمن هیپوکسی، ۳ مخزن ۲۵ لیتری هر یک دارای ۱۰ قطعه ماهی (با میانگین وزن ۱/٤۳± ۳۷/۵۰ گرم) به‌مدت ۳٦ ساعت تحت استرس مزمن کمبود اکسیژن در محدوده ۲/۵ تا ۲ گرم در لیتر قرار داده شد. برای تنظیم مقادیر اکسیژن در مخازن ماهی تحت استرس مزمن هوادهی کاهش یافت و در مخازن با استرس حاد نیز اکسیژن‌دهی به‌طور کامل قطع شد. در طول زمان آزمایش مقادیر اکسیژن محلول آب با دستگاه اکسیژن‌سنج در محدوده فوق‌الذکر تنظیم و دمای آب ثابت نگه داشته شد. در زمان انجام استرس به‌منظور جلوگیری از تغییر در کیفیت آب و فاکتورهای خونی غذادهی ماهیان قطع گردید.

نمونه‌برداری و خون‌شناسی ماهی کپور: خونگیری از ساقه دمی ۳ قطعه ماهی از هر تکرار پس از بیهوشی انجام و به‌منظور جلوگیری از لخته شدن خون نیز سرنگ آغشته به هپارین شد. به‌منظور اندازه‌گیری فاکتورهای خون‌شناسی هم‌چون شمارش تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC) از لام نئوبار استفاده شد. مقدار هموگلوبین (Hb) با استفاده از روش سیانید هموگلوبین اندازه‌گیری شد. برای تعیین درصد هماتوکریت (Hct) از روش میکروهماتوکریت استفاده گردید. برای تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید و شمارش لمفوسیت، مونوسیت و نوتروفیل نیز گسترش خونی تهیه و رنگ‌آمیزی انجام شد (کلونتز، ۱۹۹٤).

پاسخ ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم خون: به‌منظور سنجش فاکتورهای ایمنی (لیزوزیم، کمپلمان ۵۰، گلوکز و کورتیزول) و آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسماتاز و کاتالاز) سرم خون ماهی کپور معمولی، خونگیری از ۳ قطعه ماهی از هر تکرار پس از بیهوشی انجام شد. خون درون میکروتیوب‌های استریل قرار گرفت و با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت rpm × ۷۰۰۰ دور در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سرم خون جدا و تا زمان سنجش فاکتورها در فریزر ۸۰- آزمایشگاه مرکزی دانشگاه گنبدکاووس نگهداری شد. برای سنجش فعالیت لیزوزیم، ترسیم منحنی استاندارد توسط لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ (۱ میلی‌گرم در لیتر لیزوزیم) انجام شد. مقدار ۲۵ میکرولیتر از پلاسما به پلیت‌های ۹٦ خانه‌ای الایزا افزوده شد و سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) در غلظت ۰/۲۰ میلی‌گرم در لیتر در ۰/۵ مولار بافر فسفات با پی‌اچ ٦/۲ اضافه شد. با استفاده از دستگاه الایزا (Bio-Tak) جذب نوری اولیه در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت و پس از ۱ ساعت نگهداری در دمای ۲۲ درجه‌سانتی‌گراد اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد (۱۳). میزان ایمنوگلوبولین کل توسط کیت مخصوص به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (۱٤). فعالیت کمپلمان ۵۰ بر اساس روش ارائه شده توسط سانیر و تورت (۱۹۹۵) سنجش و پروتئین سرم خون با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد (۱۵، ۱٦). میزان گلوکز سرم با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون، کرج، ایران) براساس دستورالعمل شرکت سازنده و به روش رنگ‌سنجی تعیین گردید. سطوح کورتیزول سرم با استفاده از کیت آزمایشگاهی به روش ELISA (IBL Co., Gesellschaft für Immunchemie und Immunbiologie) تعیین شد. برای آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز (SOD)، ابتدا در حضور هیدروژن پراکساید (H_2O_2) فرآیند اتواکسیداسیون پیروگالول بررسی شد. در طی این فرآیند از سطح آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز موجود در سرم کاسته شد، سپس

سنجش با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ٤٢٠ نانومتر انجام شد (۱۷). گلوتاتیون احیا شده بر اساس روش المن (۱۹۵۹) در طول موج ٤١٢ نانومتر و فعالیت مالانون دی آلدئید براساس روش بلوچ‌نژاد مجرد و همکاران (۲۰۱۰) در طول موج ۵۳۵ نانومتر سنجش شد. برای سنجش آنزیم کاتالاز (CAT)، سرم خون نمونه‌ها با محلول پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق در مجاورت هم قرار گرفتند (۱۸، ۱۹). سپس از محلول آمونیوم مولیبدات جهت توقف فرآیند اکسیداسیون جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. سنجش با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ٤١٠ نانومتر انجام شد (۲۰).

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها: قبل از آنالیز آماری نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو–ولیک (Shapiro-Wilk) بررسی شد. برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One- Way ANOVA) و بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری از آزمون چند دامنه دانکن استفاده شد ($P<۰/۰۵$). اطلاعات جمع‌آوری شده در نرم‌افزار Microsoft Office Excel وارد شده و تحلیل‌های آماری با نرم‌افزار IBM SPSS Statistics انجام گردید.

نتایج

آنالیز واریانس یک‌طرفه شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی تحت استرس هیپوکسی در سیستم بیوفلاک در جدول ۱ ارائه شده است. گلبول‌های سفید بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت به‌طوری‌که بیش‌ترین آن در تیمار استرس حاد به‌دست آمد ($P<۰/۰۵$)، درحالی‌که بین تیمار شاهد و استرس مزمن تفاوتی وجود نداشت. گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و نوتروفیل کاهش معنی‌دار آماری در تیمار شاهد داشت ($P<۰/۰۵$). این فاکتورها بین تیمارهای استرس مزمن و حاد اختلاف معنی‌دار نداشت ($P>۰/۰۵$). MCV، MCH و MCHC بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری نداشت ($P>۰/۰۵$). بیش‌ترین درصد لنفوسیت و کم‌ترین درصد مونوسیت در تیمار شاهد مشاهده شد.

جدول ۱- میانگین شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی تحت استرس هیپوکسی در سیستم بیوفلاک.

	تیمارهای آزمایشی		
	شاهد	استرس مزمن	استرس حاد
گلبول سفید (هزار/ میلی‌مترمکعب)	۳/۵۰ ±۰/۱۰^{b}	٤/٤۳ ±۰/۵۰^{b}	۷/۸٦ ±۰/۹۲^{a}
گلبول قرمز (میلیون/میلی‌مترمکعب)	۰/۸۸ ±۰/۰۳^{b}	۱/۰٦ ±۰/۰۳^{a}	۱/۱۱ ±۰/۱۱^{a}
هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)	٦/۰٦ ±۰/۱۵^{b}	۷/۰۳ ±۰/۲۰^{a}	۷/٤۰ ±۰/۵۵^{a}
هماتوکریت (درصد)	۲۷/۵۷ ±۱/۳٦^{b}	۳۳/۱۵ ±۱/۰٦^{a}	۳٤/۸٤ ±۳/۲۳^{a}
(fl) MCV	۳۰۹/۱۵ ±۵/٦۳	۳۰۹/۵۳ ±۰/۷۱	۳۰۹/٦۸ ±۳/۷۷
(Pg) MCH	٦٦/۲۰ ±۰/۳٤	٦٦/٦۳ ±۲/٤۵	٦۸/۷۰ ±۱/۱۷
MCHC (گرم بر دسی‌لیتر)	۲۱/۳۰ ±۰/۱۷	۲۱/۳٦ ±۰/۵۹	۲۲/۲۰ ±۰/۷۸
نوتروفیل‌ها (درصد)	۱۱/۸۷ ±۰/٤۹^{b}	۱۵/۹۸ ±۱/۳۷^{a}	۱٤/۳۳ ±۰/۹۷^{a}
لنفوسیت‌ها (درصد)	۸٤/۹٤ ±۰/٤۹^{a}	۷۹/۷۸ ±۰/۵۵^{b}	۸۰/۰۵ ±۱/٦۸^{b}
مونوسیت‌ها (درصد)	۳/۷٤ ±۰/٦۲^{b}	۵/۰۰ ±۰/۵۱^{a}	۵/٤۹ ±۰/٦۰^{a}

وجود حروف نامشابه در هر ردیف نشان از اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

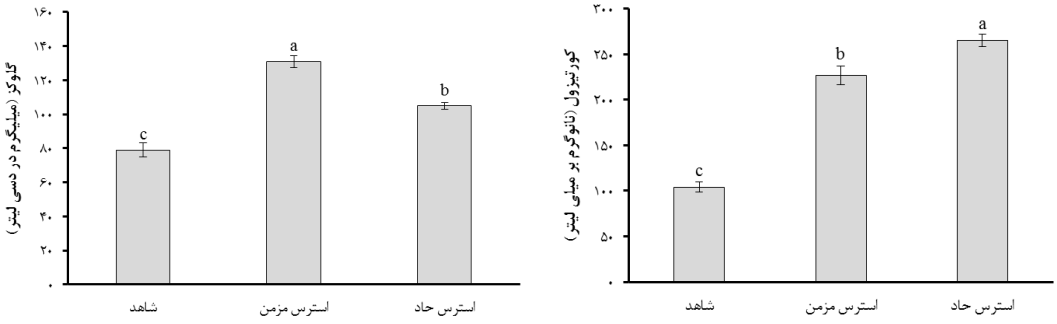
میانگین به‌دست آمده از فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی تحت استرس هیپوکسی در سیستم بیوفلاک در جدول ۲ آمده است. فعالیت لیزوزیم، ایمنوگلوبولین کل، کمپلمان ۵۰، پروتئین و آلبومین در تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای استرس مزمن و حاد هیپوکسی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲- فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی تحت استرس هیپوکسی در سیستم بیوفلاک.

	تیمارهای آزمایشی		
	شاهد	استرس مزمن	استرس حاد
لیزوزیم (واحد/میلی‌لیتر/دقیقه)	۳۰/۵۲ ±۱/۰۵^{a}	۲۱/۵۳ ±۰/۷۰^{b}	۲۲/۹۰ ±۱/۵۵^{b}
ایمنوگلوبولین کل (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	۱۰/٤٦ ±۰/۱۵^{a}	۹/۳۸ ±۰/۱٦^{b}	۸/۵۵ ±۰/۲۱^{c}
کمپلمان ۵۰ (واحد ٪)	۱۳٦/٦۷ ±۱/۱۵^{a}	۱۲٦/٦۰ ±۱/٦۵^{b}	۱۲۷/٦۲ ±۱/۵۳^{b}
پروتئین (گرم بر دسی‌لیتر)	۱/٦۰ ±۰/۰۵^{a}	۱/۳٤ ±۰/۰۸^{b}	۱/۲۵ ±۰/۰۵^{b}
آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر)	۰/۷۵ ±۰/۰۲^{a}	۰/٦۱ ±۰/۰٤^{b}	۰/۵٤ ±۰/۰۲^{c}

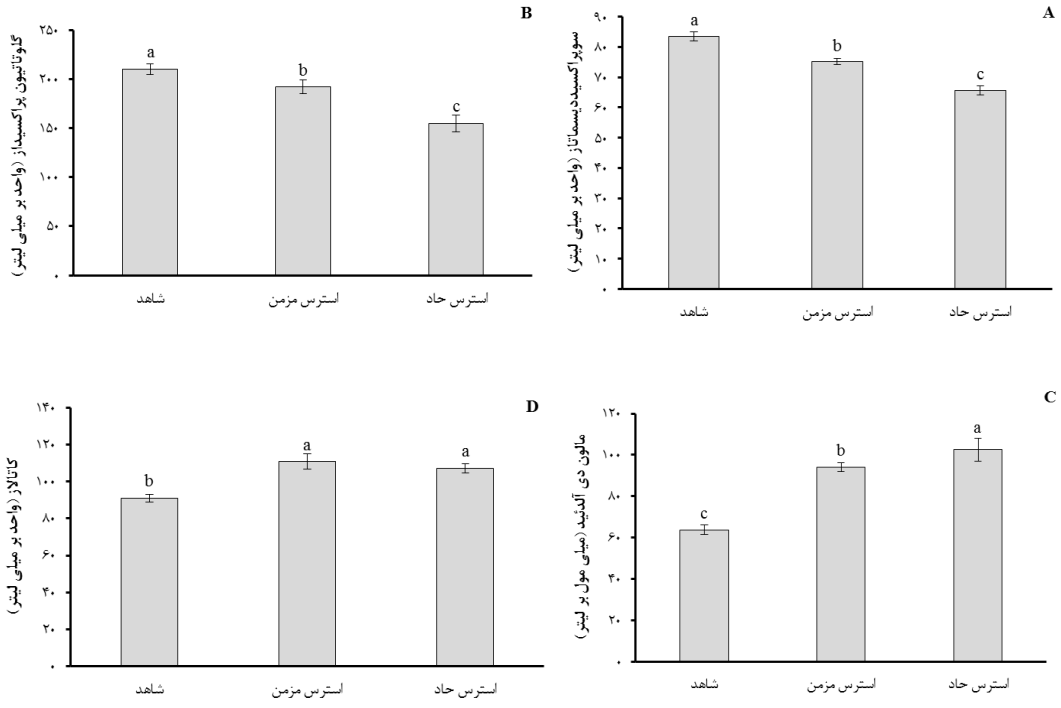
وجود حروف نامشابه در هر ردیف نشان از اختلاف آماری معنی‌دار آماری می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

آنالیز به‌دست آمده از شاخص‌های استرس هم‌چون گلوکز و کورتیزول در شکل ۱ نشان داده شده است. مقادیر گلوکز و کورتیزول در تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای استرس مزمن و حاد هیپوکسی کاهش معنی‌دار آماری داشت. در این آزمایش بیش‌ترین میزان کورتیزول در تیمار استرس حاد به‌دست آمد.



شکل ۱- شاخص‌های استرس (گلوکز و کورتیزول) ماهی کپور معمولی تحت استرس هیپوکسی در سیستم بیوفلاک.
وجود حروف نامشابه نشان از اختلاف آماری معنی‌دار آماری می‌باشد ($P<۰/۰۵$)

آنالیز واریانس یک‌طرفه داده‌های به‌دست آمده از فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی در شکل ۲ نشان داده شده است. سوپراکسیددیسماتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در تیمار شاهد در مقایسه با دیگر تیمارهای استرس هیپوکسی افزایش معنی‌دار آماری داشت در حالی‌که مقادیر غلظت مالون دی‌آلدئید و کاتالاز در تیمار شاهد کاهش داشت.



شکل ۲- شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی سرم خون ماهی کپور معمولی تحت استرس هیپوکسی در سیستم بیوفلاک.
وجود حروف نامشابه نشان از اختلاف آماری معنی‌دار آماری می‌باشد (P<۰/۰۵)

بحث و نتیجه‌گیری

تکنولوژی بیوفلاک یکی از سیستم‌های پرورشی مقرون به صرفه اقتصادی است، اما یکی از عوامل محدودکننده توسعه این تکنولوژی تامین و کنترل اکسیژن‌محلول در این محیط پرورشی می‌باشد که در غیر این‌صورت رسوب فلاک در کف مخازن و آبشش ماهیان باعث ایجاد شرایط نامطلوب زیستی می‌کند. اگرچه مطالعات زیادی در خصوص به‌کارگیری روش‌های مختلف تکنولوژی بیوفلاک در صنعت آبزی‌پروری انجام شده است اما تاکنون اثرات فیزیولوژیکی کاهش اکسیژن (استرس هیپوکسی) بر ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک مورد تحقیق و پژوهش قرار نگرفته است از این‌رو نتایج به‌دست آمده از این پژوهش می‌تواند در تخمین میزان مقاومت ماهی کپور معمولی در برابر استرس هیپوکسی در سیستم بیوفلاک و میزان تغییرات ایمنی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو ماهی کپور به‌کار گرفته شود. ارزیابی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی اطلاعات ارزشمندی را درباره سلامت بسیاری از جانوران از جمله ماهیان ارائه می‌دهد (۲۱). نتایج این پژوهش نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید در تیمار استرس حاد هیپوکسی در مقایسه با دیگر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت. هم‌چنین بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیمارهای تحت استرس مزمن و حاد هیپوکسی به‌دست آمد. در این راستا، افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در شاخص‌های هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز و همچنین تورم گلبول قرمز در ماهی کپور معمولی تحت شرایط استرس هیپوکسی گزارش شده است (۲۲). در پژوهشی تغییرات اکسیژنی هیپوکسی،

نرموکسی و هیپراکسی بر برخی شاخص‌های خونی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) نشان داد که بیش‌تربن تعداد گلبول سفید، قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در تیمار استرس هیپوکسی بوده است (۲۳) که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر همسو می‌باشد. در پژوهشی گزارش شده است که استرس هیپوکسی به‌میزان ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش در پارامترهای خون از جمله تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین در مقایسه با گروه شاهد در ماهی مینو آمور (*Phoxinus lagowskii*) می‌شود (۲٤). زمانی‌که ماهیانی در شرایط کمبود اکسیژن قرار می‌گیرند برای جبران استرس ناشی هیپوکسی، میزان هموگلوبین و هماتوکریت خون جهت افزایش اکسیژن‌رسانی به اندام‌های حیاتی بدن نیز بیش‌تر می‌شود (۲۵) که از نظر فیزیولوژیکی افزایش هماتوکریت حین استرس ممکن است به‌دلیل کاهش حجم پلاسما، متورم شدن گلبول‌های قرمز یا رها شدن مقادیر بیش‌تری گلبول قرمز از بافت‌های خونساز به درون خون باشد (۲٦).

استرس هیپوکسی باعث تغییر در پاسخ ایمنی ماهیان می‌شود (۲۷، ۲۸، ۲۹)، از این‌رو در این آزمایش پارامترهای ایمنی مانند لیزوزیم، ایمونوگلوبین کل، کمپلمان ۵۰، پروتئین، آلبومین و هم‌چنین شاخص‌های استرس مانند کورتیزول و گلوکز مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که پارامترهای ایمنی بین تیمار شاهد و تیمارهای استرس مزمن و حاد هیپوکسی افزایش معنی‌دار آماری داشت درحالی‌که کورتیزول و گلوکز کاهش یافت. در این پژوهش استرس هیپوکسی در سیستم بیوفلاک منجر به کاهش پاسخ ایمنی شد که در این راستا مشخص شد که دوره‌های طولانی‌مدت کمبود اکسیژن در آب تا ۱/۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش پاسخ استرس در ماهی دم زرد (*Seriola lalandi*) و ماهی تیلاپیا می‌شود (۳۰). پاسخ ایمنی بین گونه‌های مختلف بر اساس شرایط زیستی و واکنش فیزیولوژیک بدن متفاوت است. همسو با نتایج پژوهش حاضر، عبدالتواب و همکاران (۲۰۱٤) با بررسی تأثیر سطوح مختلف اکسیژن ۱ تا ۱/۵ (پایین)، ۳ تا ۳/۵ (متوسط) ٦/۵ تا ۷ (بالا) میلی‌گرم در لیتر به‌مدت ۱۲ هفته پرورشی بر تغییرات ایمنی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) دریافتند که با کاهش سطح اکسیژن نیز فعالیت لیزوزیم و هم‌چنین مقاومت ماهی در برابر عفونت آئروموناس هیدروفیلا کاهش می‌یابد (۳۱). هم‌چنین در پژوهشی گزارش شده است که استرس هیپوکسی منجر به افزایش معنی‌دار سطح کورتیزول، گلوکز و تعداد گلبول‌های قرمز خون ماهی خاویاری گونه (*Acipenser schrenckii*) شد (۳۲). در پژوهشی باقرزاده لاکانی و همکاران (۲۰۱۵) اثرات هیپوکسی، نورموکسی و هیپراکسی بر فاکتورهای هماتولوژی و پارامترهای بیوشیمیایی خون فیل‌ماهی مورد بررسی قرار دادند (۳۳). نتایج نشان از عدم اختلاف معنی‌دار میزان گلوکز و کورتیزول بین تیمارهای آزمایشی بود که به‌نظر می‌رسد علت اصلی آن مواجهه طولانی‌مدت هشت هفتگی ماهی در معرض استرس اکسیژن بوده است، به‌عبارتی قرارگیری ماهی در برابر استرس طولانی‌مدت به‌صورت مزمن باعث شده تا ماهی نسبت به شرایط سازگار شود. استرس هیپوکسی می‌تواند هموستاز فیزیولوژیکی را که در آن فرآیند پیچیده‌ای از تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در ماهی برای مقابله با شرایط استرس است را مختل کند (۳٤) بنابراین کمبود اکسیژن با اختلال در سیستم ایمنی باعث افزایش ترشحات هورمون‌های استرس

مانند کورتیزول می‌شود. میزان هورمون کورتیزول و تغییرات در متابولیسم کربوهیدرات‌ها مانند گلوکز می‌تواند به‌عنوان شاخص عمومی استرس مورد استفاده قرار گیرد. در ماهی‌ها، تولید کورتیزول از بافت بین‌کلیوی توسط فاکتور آزادکننده کورتیکوتروفین (CRF) و بالعکس ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH) از بخش قدامی غده هیپوفیز مانع از ترشح کورتیزول می‌گردد (۳۵). هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک هورمونی است که اغلب به‌دنبال کاهش سطح گلوکوکورتیکوئیدها یا افزایش نیاز بدن در مواردی مانند استرس آزاد می‌شود (۳٦).

آنتی‌اکسیدان‌ها ساختارهای آنزیمی و غیرآنزیمی هستند که از طریق روش‌های مختلف سبب کاهش استرس‌های اکسیداتیو شده و به‌نوعی نقش پاکسازی رادیکال‌های آزاد را در سلول ایفا می‌کنند از این‌رو در این پژوهش با اعمال استرس هیپوکسی بر عملکرد شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی سرم خون مانند سوپراکسید دیسماتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، مالون‌دی‌آلدئید و کاتالاز ماهی کپور معمولی در سیستم بیوفلاک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده از شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی نشان از اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی بود به‌طوری‌که تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب در تیمارهای شاهد، هیپوکسی مزمن و هیپوکسی حاد مشاهده گردید.

اگرچه در پژوهش‌های مرتبط با پرورش ماهی در سیستم بیوفلاک برای تعیین وضعیت سلامت ماهی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفته است که می‌توان به پژوهش تأثیر سطوح مختلف پروتئین و منابع کربن بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی پرورش یافته در سیستم مبتنی بر بیوفلاک (۳۷)، عملکرد فناوری بیوفلاک بر وضعیت اکسیداتیو ماهی کپور معمولی تحت تراکم بالای ذخیره‌سازی (۳)، ارزیابی پارامترهای ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی در نسبت‌های مختلف کربن به ازت در سیستم بیوفلاک (۳۸) اشاره کرد، اما تاکنون پژوهشی در خصوص اثرات استرس هیپوکسی بر عملکرد شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در سیستم بیوفلاک انجام نشده است. اثرات استرس هیپوکسی حاد با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن بر مقاومت اکسیداتیو ماهیان گربه‌ماهی زرد هیبرید (*Pelteobagrus fulvidraco* × *P. vachelli*) نشان داد که کمبود اکسیژن محلول در زیر آستانه طبیعی باعث استرس متابولیک، سرکوب سیستم ایمنی و استرس اکسیداتیو ماهی می‌شود (۳۹). هم‌چنین در مطالعه‌ای تأثیر هیپوکسی حاد با اکسیژن ۰/۰٤± ۱/۱٤ میلی‌گرم در لیتر و اکسیژن‌رسانی مجدد به‌میزان ۰/۱٤± ٦/۹۰ میلی‌گرم در لیتر بر استرس اکسیداتیو در گربه‌ماهی زرد جوان (*Pelteobagrus fulvidraco*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان از افزایش معنی‌دار آماری غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در بافت‌های کبد و آبشش در طول دوره هیپوکسی بود (٤۰). استرس‌ها می‌توانند تحت‌تأثیر شرایط محیطی، زیستی و مدیریتی کارگاه به وجود آمده و تأثیرات منفی بر فعالیت و سلامت ماهی بگذارند از این‌رو کنترل شرایط زیستی آبزیان از جمله سیستم اکسیژن‌رسانی در سیستم بیوفلاک بسیار دارای اهمیت است. نتایج این پژوهش نشان داد که در صورت عدم مدیریت اکسیژن محلول و بروز هیپوکسی حاد در سیستم‌های بیوفلاک تنها کم‌تر از یک ساعت و سی دقیقه فرصت وجود دارد تا از تلفات دسته جمعی ماهی کپور معمولی جلوگیری کرد که این امر در نتیجه ضعف سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

منابع

1. Mustapha, U.F., Alhassan, A.W., Jiang, D.N., and Li, G.L. 2021. Sustainable aquaculture development: a review on the roles of cloud computing, internet of things and artificial intelligence (CIA). Rev. Aquac. 13: 4. 2076-2091.
2. Avnimelech, Y. 2009. Biofloc technology. A practical guide book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, 182p.
3. Adineh, H., Naderi, M., Hamidi, M.K., and Harsij, M. 2019. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. Fish and Shellfish Immunol. 95: 440-448.
4. Abdullah Mashai, M. 2000. Fish physiology in dense breeding systems (translation). Deputy of Aquaculture and Reproduction - General Directorate of Education and Extension, 302p.
5. Timmons, M.B., Ebeling, J.M., Wheaton, F.W., Summerfelt, S.T., and Vinci, B.J. 2002. Recirculating aquaculture systems. Cayuga Aqua Ventures Inc. 2th. Edition. USA. 769p.
6. Parker, T.M. 2013. Effects of the interaction of environmental factors (hypoxia and ammonia) on fish. M.Sc. Thesis, the Ohio State University, USA. 72p.
7. Verma, A.K., Rani, A.B., Rathore, G., Saharan, N., and Gora, A.H. 2016. Growth, non-specific immunity and disease resistance of *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila* in biofloc systems using different carbon sources. Aquaculture. 457: 61-67.
8. Martins, G.B., da Rosa, C.E., Tarouco, F.D.M., and Robaldo, R.B. 2019. Growth, water quality and oxidative stress of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) in biofloc technology system at different pH. Aquac. Res. 50: 4. 1030-1039.
9. Debbarma, R., Biswas, P., and Singh, S.K. 2021. An integrated biomarker approach to assess the welfare status of *Ompok bimaculatus* (Pabda) in biofloc system with altered C/N ratio and subjected to acute ammonia stress. Aquaculture. 545: 737184.
10. Soaudy, M.R., Mohammady, E.Y., Elashry, M.A., Ali, M.M., Ahmed, N.M., Hegab, M.H., and Hassaan, M.S. 2021. Possibility mitigation of cold stress in Nile tilapia under biofloc system by dietary propylene glycol: Performance feeding status, immune, physiological responses and transcriptional response of delta-9-desaturase gene. Aquaculture. 538: 736519.
11. Liu, W., Lv, X., Ye, J., Tan, H., Luo, G., and Wan, Y. 2022. Effects of different biofloc sizes on the short-term stress of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier), juveniles reared in biofloc aquaculture systems. Aquac. Res. 53: 5. 1995-2003.
12. Wawrowski, A., Gerlach, F., Hankeln, T., and Burmester, T. 2011. Changes of globin expression in the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) in response to acute and chronic hypoxia. J. Comp. Physiol B. 181: 2. 199-208.
13. Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel, publication. pp. 101-103.
14. Siwicki, A. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. Fish diseases diagnosis and preventions methods.
15. Sunyer, J.O., and Tort, L. 1995. Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream Sparus aurata serum are affected by the alternative complement pathway. Vet. Immunol. Immunopathol. 45: 3. 333-345.
16. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., and Wassermann, G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). Fish Physiol. Biochem. 30: 21-25.
17. Marklund, S., and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxyde anion radical in the auto oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxyde dismutase. Eur. J. Biochem. 47: 469-474.

18. Ellman, G.L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys. 82: 1. 70-77.
19. Baluchnejadmojarad, T., Roghani, M., and Mafakheri, M. 2010. Neuroprotective effect of silymarin in 6-hydroxydopamine hemi-parkinsonian rat: involvement of estrogen receptors and oxidative stress. Neuroscience letters. 480: 3. 206-210.
20. Goth, L. 1991. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clinica Chimica Acta. 196: 2-3. 143-151.
21. Bani, A., and Haghi Vayghan, A. 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, Rutilus frisii kutum. Ichthyological research. 58: 2. 126-133.
22. Bahrami Nejad Junghani, Z. 2009. Study of blood changes in the treatment of hypoxia in common carp (*Cyprinus carpio*). Department of Marine Biology, University of Guilan, M.Sc. thesis. 72p.
23. Rezakhani, S., Mohammadizadeh, F., Khara, H., Hooshang Bahri, A., and Ahmadnezhad, M. 2021. Evaluation of oxygen changes on survival, some stress indices and hematological and immunological factors in Caspian Sea salmon (*Salmo trutta* caspius). Aqua Physiol and Biotech. 9: 1. 96-77.
24. Yang, Y., Wang, Z., Wang, J., Lyu, F., Xu, K., and Mu, W. 2021. Histopathological, hematological, and biochemical changes in high-latitude fish Phoxinus lagowskii exposed to hypoxia. Fish Physiol. Biochem. 47: 4. 919-938.
25. Fraser, J., De Mello, L.V., Ward, D., Rees, H.H., Williams, D.R., Fang, Y., and Cossins, A.R. 2006. Hypoxia-inducible myoglobin expression in nonmuscle tissues. Proc. Natl. Acad. Sci. 103: 8. 2977-2981.
26. Swift, D.J. 1982. Changes in selected blood component values of rainbow trout, Salmo *gairdneri Richardson*, following the blocking of the cortisol stress response with betamethasone and subsequent exposure to phenol or hypoxia. Journal of Fish Biology. 21: 3. 269-277.
27. Boleza, K.A., Burnett, L.E., and Burnett, K.G. 2001. Hypercapnic hypoxia compromises bactericidal activity of fish anterior kidney cells against opportunistic environmental pathogens. Fish and Shellfish Immunol. 11: 593-610.
28. Kvamme, B.O., Gadan, K., Finne-Fridell, F., Niklasson, L., Sundh, H., Sundell, K., Taranger, G.L., and Evensen, Ø. 2013. Modulation of innate immune responses in Atlantic salmon by chronic hypoxia-induced stress. Fish and Shellfish Immunol. 34: 55-65.
29. Abdel-Tawwab, M., Hagras, A.E., Elbaghdady, H.M., and Monier, M.N. 2015. Effects of dissolved oxygen and fish size on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.): growth performance, whole-body composition, and innate immunity. Aquac Int. 23: 1261-1274.
30. Evans, J.J., Shoemaker, C.A., and Klesius, P.H. 2003. Effects of subletha dissolved oxygen stress on blood glucose and susceptibility to *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. J. Aquat. An. Health. 15: 202-208.
31. Abdel-Tawwab, M., Hagras, A.E., Elbaghdady, H.M., and Monier, M.N. 2014. Dissolved oxygen level and stocking density effects on growth, feed utilization, physiology, and innate immunity of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. J. Appl. Aquac. 26: 340-355.
32. Ni, M., Wen, H., Li, J., Chi, M., Ren, Y., Song, Z., and Ding, H. 2014. Two HSPs gene from juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*): cloning, characterization and expression pattern to crowding and hypoxia stress. Fish Physiol. Biochem. 40: 6. 1801-1816.
33. Bagherzadeh Lakani, F., Sattari, M., Kazemi, R., Yazdani Sadati, M.A., Pourdehghani, M., and Ashouri, G. 2015. Effects of Hypoxia, Normoxia and Hyperoxia on Hematological and Biochemical Parameters of Two Weight Classes in Farmed Great Sturgeon (*Huso huso*). J. Oceanogr. 6: 22. 59-68.

34.Terova, G., Rimoldi, S., Corà, S., Bernardini, G., Gornati, R., and Saroglia, M. 2008. Acute and chronic hypoxia affects HIF-1α mRNA levels in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. 279: 150-159.
35.Fryer, J.L., and Lederis, K. 1986. Control of corticotropin secretion in teleost fishes. American Zoologist. 26: 1017-1026.
36.Adineh, H., Jafaryan, H., Khademi Hamidi, M., Karimtabar, F.Z., and Sedaghat, Z. 2021. The effects of reducing the feeding rates on growth and feed performance, blood biochemical parameters, and water quality in bio-floc common carp (*Cyprinus carpio*) culture and clean systems. J. Fish. 74: 3. 453-466.
37.Ebrahimi, A., Akrami, R., Najdegerami, E.H., Ghiasvand, Z., and Koohsari, H. 2020. Effects of different protein levels and carbon sources on water quality, antioxidant status and performance of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles raised in biofloc based system. Aquaculture. 516: 734639.
38.Haghparast, M.M., Alishahi, M., Ghorbanpour, M., and Shahriari, A. 2020. Evaluation of hemato-immunological parameters and stress indicators of common carp (*Cyprinus carpio*) in different C/N ratio of biofloc system. Aquac. Int. 28: 6. 2191-2206.
39.Dagoudo, M., Qiang, J., Bao, J.W., Tao, Y.F., Zhu, H.J., Tumukunde, E.M., and Xu, P. 2021. Effects of acute hypoxia stress on hemato-biochemical parameters, oxidative resistance ability, and immune responses of hybrid yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*× *P. vachelli*) juveniles. Aquac Int. 29: 5. 2181-2196.
40.Wang, M., Wu, F., Xie, S., and Zhang, L. 2021. Acute hypoxia and reoxygenation: Effect on oxidative stress and hypoxia signal transduction in the juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Aquaculture. 531: 735903.